

Verfahren zur Herstellung von konjugierter Linolsäure

Gebiet der Erfindung

Die Erfindung befindet sich auf dem Gebiet der Fettsäuren und betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung von angereicherter konjugierter Linolsäure, die bei Temperaturen unterhalb von 10°C nicht zu Produkttrübungen führt.

Stand der Technik

Herstellungsmethoden für die Gewinnung mehrfach ungesättigter Linolsäuren mit konjugierten Doppelbindungen, die unter der Bezeichnung "CLA" (conjugated linoleic acid) im Handel sind und vermehrt als Lebensmittelzusatzstoffe eingesetzt werden, sind aus der Literatur vielfach bekannt.

Die reine CLA wird in der Regel durch Verseifung linolsäurehaltiger Öle gewonnen. Nachteil dieser Verfahren ist der hohe Anteil unerwünschter Isomere und die geringe Ausbeute.

So beschreibt die Internationale Anmeldung WO 96/06605 A1 die Herstellung freier konjugierter Linolsäure ausgehend von Triglyceriden und Linolsäure, die in Ethylenglycol mit Kaliumhydroxid verseift und gleichzeitig isomerisiert werden. Die CLA wird nach erfolgreicher Neutralisation des Reaktionsgemisches mit Salzsäure anschließend mit einem organischen Lösungsmittel (Hexan) extrahiert und durch Waschen aufgereinigt.

In der Europäischen Patentschrift EP 0 839 897 B1 wird ein Verfahren offenbart bei dem Triglyceride mit Linolsäure einer alkalischen Isomerisation mit Kaliumhydroxid in Propylenglycol unterzogen werden. Die weitere Aufarbeitung erfolgt ebenfalls durch Neutralisation mit Salzsäure, Extraktion mit Hexan und Waschen mit 5 Gew. % NaCl-Lösung.

Ein ähnliches Verfahren zur Herstellung einer qualitativ hochwertigen CLA wird in der Europäischen Patentanmeldung EP 0 950 410 A1 beschrieben.

Bei der Herstellung der oben genannten konjugierten Linolsäure wurde von Saffloröl (Distelöl) oder Sonnenblumenöl ausgegangen. Ein großer Nachteil dieses Verfahrens besteht darin, dass einerseits der Gehalt an konjugierter Linolsäure durch den Linolsäuregehalt der Triglyceride bestimmt wird – es können üblicherweise nur Gehalte von 63-78% erhalten werden - und andererseits eine hohe Menge unerwünschter Abfallstoffe entsteht. Ein weiterer Nachteil dieser Produkte ist der hohe Gehalt an gesättigten Fettsäuren (vor allem Palmitin- und Stearinsäure), der dazu führt, dass das Produkt bei tieferen Temperaturen ($< 10^{\circ}\text{C}$) Niederschläge aufweist.

Um diese Nachteile zu beheben wird in der Regel der Gehalt an gesättigten Fettsäuren durch mehrmalige Destillation gesenkt. Dies führt jedoch zu deutlichen Ausbeuteverlusten, was aus wirtschaftlichen und ökologischen Gesichtspunkten unerwünscht ist

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung hat daher darin bestanden, ein Verfahren zur Herstellung von konjugierter Linolsäure zur Verfügung zu stellen, das sich durch eine hohe Rentabilität auszeichnet und in hoher Ausbeute zu einem Endprodukt guter Reinheit führt. Die hergestellte konjugierte Linolsäure soll sich durch eine gute Lagerstabilität auszeichnen und insbesondere bei tiefen Temperaturen nicht zu Ausfällungen neigen.

Beschreibung der Erfindung

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von konjugierter Linolsäure, bei dem man

- (a) Linolsäureniedrigalkylester mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen in einem linearen oder verzweigten Alkylrest in Gegenwart von Alkalialkoholaten isomerisiert
- (b) die dann konjugierten Linolsäuren aus dem Ester nach Verseifung freisetzt und
- (c) die freien Linolsäuren einer Kristallisation unterzieht.

Überraschenderweise wurde gefunden, dass durch dieses Verfahren konjugierte Linolsäure mit hoher Reinheit und einer verbesserten Lagerungsstabilität bei tiefen Temperaturen in hoher Ausbeute gewonnen werden konnte.

Die Herstellung aus Linolsäureniedrigalkylestern bietet die Möglichkeit Produkte mit einem Gehalt von CLA > 78% herzustellen.

Das Einfügen des Kristallisationsschrittes führt zu einem wesentlich wirtschaftlicheren und ökonomischeren Verfahren als herkömmliche Prozessschritte wie eine Destillation, bei der es zu Ausbeuteverlusten in Größenordnungen von über 20 % kommt.

Durch fraktionierte Destillation der Linolsäureniedrigalkylester kann der Gehalt an unerwünschten Nebenprodukten wie Palmitinsäure soweit gesenkt werden, dass der Gehalt an konjugierter Linolsäure mehr als 78 Gew.% beträgt. Der Nachteil dieses Verfahrens liegt also zum einen in der Ausbeute der fraktionierten Destillation und zum anderen in unerwünschten Nebenprodukten (niedriger Alkohol, Restgehalte an Estern). Diese Nachteile konnten durch den Einsatz eines Kristallisationsschrittes anstelle der Destillation vermieden werden. Es wurde ein lagerungsstabiles Endprodukt gewonnen, dessen Lagerung bei tiefen Temperaturen – Temperaturen unterhalb von 10°C - nicht zu Ausfällungen führte.

Konjugierte Linolsäure (CLA)

Unter konjugierter Linolsäure sind erfindungsgemäß vorzugsweise die Hauptisomeren 9cis,11trans Octadecadiensäure und 10trans,12cis sowie jedoch beliebige Isomerenmischungen, wie sie üblicherweise bei der Herstellung konjugierter Linolsäure anfallen. Die durch das erfindungsgemäße Verfahren hergestellten Rohstoffe sollen bereits einen hohen Anteil der bevorzugten Isomere enthalten.

Linolsäureniedrigalkylester

Als Ausgangsstoffe für das erfindungsgemäße Verfahren dienen Linolsäureniedrigalkylester, die vorzugsweise der Formel (I) folgen,



in der R^1CO für den Acylrest einer Linolsäure und R^2 für einen linearen oder verzweigten Alkylrest mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen steht. Insbesondere werden konjugierte Linolsäuremethyl- und/oder -ethylester eingesetzt.

Isomerisierung

Die Isomerisierung der Linolsäureniedrigalkylester wird mit Alkalialkoholaten unter Be-
gasung mit Inertgas bei Temperaturen im Bereich von 90 bis 150°C, vorzugsweise 100 bis
130 °C und besonders bevorzugt 105 bis 125 °C durchgeführt.

In einer bevorzugten Ausführungsform werden Alkalialkoholate mit 1 bis 10 C-Atomen
als Basen während der Isomerisierung verwendet, besonders bevorzugt werden Kalium-
methanolat, Kaliumethanolat oder Kalium-t-butylat eingesetzt.

Verseifung

Die Verseifung der isomerisierten Linolsäureniedrigalkylester mit wässrigen Alkalilaugen
erfolgt bei Temperaturen im Bereich von 40 bis 90 °C, vorzugsweise 60 bis 80 °C und
besonders bevorzugt 65 bis 75 °C. Sie wird bis zu einem Spaltgrad von 80 bis 100 Gew.
%, vorzugsweise größer 98% durchgeführt.

Freisetzung der CLA

Nach der Behandlung mit den Alkalilaugen liegt die CLA als Seife vor und wird durch
Ansäuern mit Phosphorsäure oder Citronensäure freigesetzt. Danach erfolgt eine Phasen-
trennung bei der die wässrige Phase abgetrennt wird und die überstehende Lösung isoliert
wird. Diese überstehende Lösung enthält das CLA und wird nochmals mit Wasser gewa-
schen und anschließend im Vakuum getrocknet.

Kristallisation

Der für die ökonomische Durchführung wesentlichste Schritt im Verfahren ist die Kristal-
lisation. Durch die Kristallisation wird sowohl der Gehalt an Palmitin- als auch an Stea-
rinsäure gesenkt. Letztere ist für die Niederschlagsbildung bei tieferen Temperaturen mit-
entscheidend.

Die Kristallisation kann je nach vorliegender Qualität der konjugierten Linolsäure ein-
oder mehrmals durchgeführt werden. Die Kristallisation wird bei Temperaturen < 10°C,
bevorzugt < 6°C durchgeführt.

Beispiel

Herstellung von konjugierter Linolsäure

In einen beheizbaren Kolben wurden 1190 g Linolsäureethylester aus Safloröl vorgelegt und unter Rühren, Stickstoffbegasung und kontinuierlichem Abdestillieren von Ethanol, wurden bei einer Temperatur von 110°C 60 g Kaliummethanolat (32 Gew.%) zugefügt. Nach Zugabe von 190 g Wasser wurden bei einer Temperatur von 70°C 1070 g einer 25 Gew.%ige Kaliumhydroxid-Lösung zur Verseifung in den Kolben gepumpt.

Zur Freisetzung der freien Säure wurde der Ansatz mit 770 g Wasser versehen und bei 70°C 510 g Phosphorsäure (85 Gew.-%) hinzugegeben. Zur Phasentrennung wurde der Ansatz dann 30 Minuten bei 70°C stehengelassen. Nachdem die wässrige Phase abgetrennt worden war, wurde nochmals mit Wasser gewaschen und schließlich die organische Phase im Vakuum getrocknet.

Nach der Verseifung erfolgte die Kristallisation der freien konjugierten Linolsäuren.

Kristallisation (Schritt c)

Systembeschreibung:

Steuerung:	PC mit Programm Wizcon
Heizung - Kühlung:	Julabo-Thermostat FP 50
Kristallisiergefäß:	Kristallisator von DeSmet (Belgien) mit 17,8 Liter Gesamtinhalt
Rührer:	beinahe wandgängiger Ankerrührer, gesamte Gefäßhöhe
Filterpresse:	kühlbare Filterpresse, Temperatur wie Badtemp., Kammer: Durchmesser 20 cm, Breite 1,8 cm, Inhalt 565 cm ³

Durchführung:

Die Fettsäure wird in den Kristallisator eingefüllt und auf 5°C abgekühlt.

Tabelle 1: Ablauf der Kristallisation

Zeit	Bad-temp.	Produkt-temp.	Bemerkung
0:42	3,0°C	5,3°C	sehr gute Kristalle, Beginn Filtration
0:44	3,0°C	5,3°C	Filtratablauf beginnt
0:59	3,0°C	5,4°C	2 Liter Filtrat, 0,2 bar auf Behälter, 1. Probe entnehmen
1:16	3,0°C	5,5°C	4 Liter Filtrat, 0,4 bar auf Behälter, 2. Probe entnehmen
1:25	3,0°C	5,6°C	Ende der Filtration, kurz mit N ₂ ausblasen, dann nachpressen

Die Ausbeute betrug nach der Kristallisation 91%. Nach Abtrennung der Oligomeren, die destillativ erfolgt, betrug die Ausbeute 86 Gew.%

Auch bei der destillativen Aufkonzentrierung muß am Ende nochmals über Kopf destilliert werden, um oligomere „CLA“-s abzutrennen, so dass ein erneuter Ausbeuteverlust auftritt..

Analytik:

GC-Methode: Silylierung der freien Fettsäuren mit anschließender Trennung auf Säule

Tabelle 2: Zusammensetzung des Reaktionsproduktes vor und nach der Kristallisation.

<i>FS-Spektrum</i>	<i>Ausgangsmaterial</i>	<i>nach Kristallisation</i>
Fettsäure C12	<0,1	<0,1
Fettsäure C14	0,1	0,1
Fettsäure C15	<0,1	<0,1
Fettsäure C16	6,6	4,4
Fettsäure C16*	0,1	0,1
Fettsäure C17	<0,1	<0,1
Fettsäure C18	2,5	1,3
Fettsäure C18*	13,5	14,1
Fettsäure C18**	0,9	0,9
Fettsäure C20	0,3	0,2
Fettsäure C20*	0,2	0,2
Fettsäure C22	0,2	0,1
Fettsäure C22*	<0,1	<0,1
Fettsäure C24	0,1	0,1
Fettsäure C24*	0,1	0,1
Fettsäure C18 konjug.	72,6	75,7
Fettsäure C18 konjug. Isomer 1	34,5	36,2
Fettsäure C18 konjug. Isomer 2	35,6	37,2
Fettsäure C18 konjug. Isomer 3	1,5	1,6
Fettsäure C18 konjug. Isomer 4	0,8	0,7
Summe Fettsäure frei	97,3	97,4

Das Ausgangsmaterial (normales Endprodukt) entspricht der Herstellung der konjugierten Linolsäure ausgehend von Safloröl. Dieses wurde mit dem Endprodukt nach der Kristallisation verglichen. Das Beispiel zeigt, dass mit der Kristallisation eine Anreicherung des CLA-Gesamtgehaltes möglich ist.

Würde Beispiel aus Spalte 2 destilliert läge die Ausbeute bei vergleichbarer Qualität (CLA-Gehalt) bei etwa 79% im Vergleich zur Kristallisation mit 86%.

Trübungsverhalten bei 8°C

Beide Produkte (Ausgangsmaterial ohne Kristallisation und kristallisiertes Material) wurden bei 8°C gelagert. Nur das kristallisierte Produkt blieb selbst nach mehrwöchiger Lagerung ohne Trübungserscheinungen.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Herstellung von konjugierter Linolsäure, bei dem man
 - (a) Linolsäureniedrigalkylester mit 1 bis 5 Kohlenstoffatomen in einem linearen oder verzweigten Alkylrest in Gegenwart von Alkalialkoholaten isomerisiert
 - (b) die dann konjugierten Linolsäuren aus dem Ester nach Verseifung freisetzt und
 - (c) die freien Linolsäuren einer Kristallisation unterzieht.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, dass man die Kristallisation (c) bei Temperaturen unterhalb von 10°C durchführt.
3. Verfahren nach mindestens einem der Ansprüche 1 und/oder 2, **dadurch gekennzeichnet**, dass man den Kristallisationsschritt (c) einmal oder mehrfach durchführt.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 03/13922

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C11C3/14 C07C51/09 C07C51/43 C07C51/353 C07C57/12

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C11C C07C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01 40419 A (CANADA MAJESTY IN RIGHT OF) 7 June 2001 (2001-06-07) page 5, paragraph 2 examples 1,9-18,21,25 claims 1-3,19-21	1-3
A	EP 0 950 410 A (CONLINCO INC) 20 October 1999 (1999-10-20) cited in the application abstract claims 19,21	1

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *&* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

10 March 2004

Date of mailing of the international search report

18/03/2004

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Delanghe, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 03/13922

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0140419	A	07-06-2001	US 6420577 B1	16-07-2002
			WO 0140419 A2	07-06-2001
			CA 2393403 A1	07-06-2001
EP 0950410	A	20-10-1999	US 6015833 A	18-01-2000
			AU 764699 B2	28-08-2003
			AU 3188699 A	11-10-1999
			CA 2289648 A1	23-09-1999
			EP 0950410 A1	20-10-1999
			JP 2000516480 T	12-12-2000
			JP 2003073269 A	12-03-2003
			NO 20004615 A	07-11-2000
			WO 9947135 A1	23-09-1999
			US 2002169332 A1	14-11-2002
			US 6410761 B1	25-06-2002
			US 2004018225 A1	29-01-2004
			US 2002098274 A1	25-07-2002
			ZA 200004855 A	15-06-2001
			AU 6399699 A	17-04-2000
			WO 0018944 A1	06-04-2000
			AU 5474599 A	06-03-2000
			WO 0009163 A1	24-02-2000

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 03/13922

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C11C3/14 C07C51/09 C07C51/43 C07C51/353 C07C57/12

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C11C C07C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, CHEM ABS Data

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 01 40419 A (CANADA MAJESTY IN RIGHT OF) 7. Juni 2001 (2001-06-07) Seite 5, Absatz 2 Beispiele 1,9-18,21,25 Ansprüche 1-3,19-21	1-3
A	EP 0 950 410 A (CONLINCO INC) 20. Oktober 1999 (1999-10-20) in der Anmeldung erwähnt Zusammenfassung Ansprüche 19,21	1

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

A Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

L Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

O Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

P Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der Internationalen Recherche

10. März 2004

Absenddatum des Internationalen Recherchenberichts

18/03/2004

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

DeLanghe, P

INTERNATIONALER RESEARCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen

PCT/EP 03/13922

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0140419	A	07-06-2001	US	6420577 B1	16-07-2002
			WO	0140419 A2	07-06-2001
			CA	2393403 A1	07-06-2001
EP 0950410	A	20-10-1999	US	6015833 A	18-01-2000
			AU	764699 B2	28-08-2003
			AU	3188699 A	11-10-1999
			CA	2289648 A1	23-09-1999
			EP	0950410 A1	20-10-1999
			JP	2000516480 T	12-12-2000
			JP	2003073269 A	12-03-2003
			NO	20004615 A	07-11-2000
			WO	9947135 A1	23-09-1999
			US	2002169332 A1	14-11-2002
			US	6410761 B1	25-06-2002
			US	2004018225 A1	29-01-2004
			US	2002098274 A1	25-07-2002
			ZA	200004855 A	15-06-2001
			AU	6399699 A	17-04-2000
			WO	0018944 A1	06-04-2000
			AU	5474599 A	06-03-2000
			WO	0009163 A1	24-02-2000